

## 研究报告

## 不同品种酿酒葡萄根围、叶围微生物群落结构特点解析

张世伟<sup>1,2,3,4</sup> 钟其顶<sup>2,3\*</sup> 孟镇<sup>2,3</sup> 罗金学<sup>4</sup> 崔丙健<sup>4</sup> 吕鹏翼<sup>1,4</sup> 黄占斌<sup>1\*</sup>

(1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院 北京 100083)

(2. 中国食品发酵工业研究院 北京 100015)

(3. 全国食品发酵标准化中心 北京 100015)

(4. 中国科学院生态环境研究中心 北京 100085)

**摘要:**【目的】了解不同品种酿酒葡萄根围、叶围细菌群落结构。【方法】以不同品种酿酒葡萄根围、叶围样品为分析材料,采用末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)技术研究根围、叶围细菌群落结构,并对细菌群落多样性进行分析。【结果】不同品种葡萄根围微生物优势菌群为变形菌门,不同品种葡萄叶围微生物优势菌群为放线菌目。根围 Simpson 指数大小顺序为白福尔>琼瑶浆>白诗南>赛美蓉>白玉霓>米勒>长相思,Shannon 指数与 Simpson 指数基本保持一致。叶围 Simpson 指数最大的为白诗南,最小的为米勒,与 Shannon 指数基本吻合。【结论】葡萄细菌群落结构综合多样性指数和品种以及定殖部位密切相关。

**关键词:** 酿酒葡萄, 细菌群落, 根围, 叶围, 末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)

## Characteristics of bacterial communities in rhizosphere and phyllosphere of wine grape plants

ZHANG Shi-Wei<sup>1,2,3,4</sup> ZHONG Qi-Ding<sup>2,3\*</sup> MENG Zhen<sup>2,3</sup> LUO Jin-Xue<sup>4</sup>CUI Bing-Jian<sup>4</sup> LÜ Peng-Yi<sup>1,4</sup> HUANG Zhan-Bin<sup>1\*</sup>

(1. School of Chemical &amp; Environmental Engineering, China University of Mining &amp; Technology (Beijing), Beijing 100083, China)

(2. China National Research Institute of Food &amp; Fermentation Industries, Beijing 100015, China)

(3. China National Standardization Center of Food &amp; Fermentation, Beijing 100015, China)

(4. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the bacterial communities structure in rhizosphere and phyllosphere of different varieties of wine grapes. [Methods] By using samples of rhizosphere soil and phyllosphere leaf of different varieties of wine grapes as the analysis materials, it was used the method of the terminal

**Foundation item:** International S&T Cooperation Program of China (ISTCP) (No. 2015FA31720); Science and Technology Nova Plan of Beijing City (No. xx2016B079)

\*Corresponding author: ZHONG Qi-Ding: Tel: 86-10-53218327; E-mail: zhongqiding@163.com  
HUANG Zhan-Bin: Tel: 86-10-82376357; E-mail: zbhuang@163.com

Received: December 21, 2015; Accepted: March 29, 2016; Published online (www.cnki.net): April 08, 2016

基金项目: 国家国际科技合作专项项目(No. 2015FA31720); 北京市科技新星计划项目(No. xx2016B079)

\*通讯作者: 钟其顶: Tel: 86-10-53218327; E-mail: zhongqiding@163.com

黄占斌: Tel: 86-10-82376357; E-mail: zbhuang2003@163.com

收稿日期: 2015-12-21; 接受日期: 2016-03-29; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-04-08

restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to study the microbial communities in the rhizosphere soil and phyllosphere, and analyzing the diversity of bacterial communities. **[Results]** The dominant microflora of wine grapes in rhizosphere soil is belonging to Proteobacteria, the dominant microflora of wine grapes in phyllosphere leaf is belonging to Actinomycetales. The order of Rhizosphere Simpson index is Folle Blanche>Gewurztraminer>Chenin blanc>Semillon>Ugni Blanc>Muller-Thurgau>Sauvignon Blanc, Shannon index is keeping consistent with Simpson index. The largest of Simpson index in phyllosphere is Chenin blanc, the smallest is Muller-Thurgau, which is basically consistent with the index of Shannon. **[Conclusion]** The diversity indices of bacterial communities structure is keeping consistent with grape varieties, and the habitat is related closely to their colonization parts on plants.

**Keywords:** Wine grape, Bacterial communities, Rhizosphere, Phyllosphere, Terminal restriction fragment length polymorphism

根区环境受到土壤理化性质、土壤微生物群落构成的微生态系统影响发生改变,而根围微生物经过长期营养循环,受到土壤质量、土壤类型以及果树的种植年限等多种因素的相互作用,微生物群落必然也会复杂多样<sup>[1-2]</sup>。因此,根围微生物群落多样性可作为指示土壤质量、评价土壤肥力的生物指标。叶片是叶围微生物生存的“微环境”<sup>[3]</sup>,作为微生物群落的另一个动态栖息地<sup>[4-5]</sup>,植物叶围活跃着多种微生物,这些微生物可能影响氮素的固定、促进植物生长、控制植物病害等<sup>[6]</sup>,不仅影响植物健康,也对微生物群落自身的演变发挥重要作用。

葡萄和葡萄酒产业在国内迅速发展,同时为使葡萄酒产业国际化,国内大力推广以及改良酿酒葡萄品种,Bokulich 等<sup>[7]</sup>利用 Illumina 高通量测序研究了不同地域、不同品种酿酒葡萄汁中微生物群落结构,发现在葡萄汁中含有代表葡萄酒酿造过程中酯类物质形成的属如 *Gluconobacter* 或是产生异味的 *Lactobacillus*,以及能提高葡萄酒感官的部分菌群,同时运用统计模型预测了不同品种酿酒葡萄对酿酒葡萄园微生物群落的影响,推测不同品种微生物群落构成差异可能会导致葡萄酒品质发生变化。Martins 等<sup>[8]</sup>利用 T-RFLP 方法研究了不同葡萄园中根围、叶围、葡萄藤以及葡萄浆果上的附生细菌,发现在葡萄叶围以及葡萄上的优势菌群为 *Pseudomonas* 和 *Sphingomonas*,这两种菌属以能在逆境胁迫中生长而著称。同时研究还表明,葡萄果实、叶片微生物数量变化、群落结构和菌群多样性及变化规律受葡萄藤以及根区微生物的影响。通过

改善根区、叶片微生物生态环境来促进植物生长,以及从植物生长微环境中筛选具有良好促生和抗菌作用的有益菌群已日益被人们重视,如分布于根围土壤、叶片、果实中的微生物群落 *Candida oleophila*、*Cryptococcus laurentii* 等能有效抑制果实采后病害<sup>[9-10]</sup>,而葡萄根区以及叶片微生物不仅可以揭示葡萄与微生物的生态关系,而且对开发利用有益的葡萄根区微生物也有重要意义。

由于环境中 99%以上的微生物是不可培养的,传统方法只能揭示部分微生物特征,而采用分子生物学方法可避免传统方法的局限性,丰富对生态系统微生物多样性的认识。T-RFLP 技术能够产生大量的可操作分类单元(OTUs),并结合在线数据库,快速准确地获得相关微生物的重要信息,用于各种微生物群落的分析比较,是一种较为先进的研究微生物群落的分子生态学方法<sup>[11]</sup>。因此,本文以不同品种酿酒葡萄为研究对象,采用 T-RFLP 技术考察不同品种酿酒葡萄根围以及叶围微生物群落种群结构和数量变化,旨在为改善葡萄栽培条件,适时调整葡萄园的栽培管理策略,指导葡萄种植业更加合理有序发展提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

引物:FAM-27 F/926 R [上游引物 27F 5'端加羧基荧光素 FAM (6-Carboxyfluorescein 标记)],由北京睿博兴科生物技术有限公司合成;Rsa I 酶,NEB (北京)有限公司;高速离心机(H165-W),湖南湘仪

离心机仪器有限公司;基因扩增仪(EDC-810),北京东胜创新生物科技有限公司;SB5200DT 超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司;SHB-III 循环式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;Fast DNA SPIN Kit for Soil 试剂盒、E.Z.N.A<sup>TM</sup> Gel Extraction Kit 试剂盒,美国 MP 公司;微孔滤膜(0.22  $\mu\text{m}$ ),美国 Millipore 公司;基因分析仪 3730 xl DNA analyzer,美国 ABI 公司。

## 1.2 样品采集及处理

样品采集于河北沙城某酿酒葡萄园,采用五点取样法取黏附在酿酒葡萄根系上的较大颗粒土,收集根系及黏附其上的土壤即为根围土,用无菌保鲜袋封装,放置于采样箱中,叶围与根围取样点植株对应,采摘酿酒葡萄植株中下部无病害绿色叶片,将采下的叶片与根系土样对应编号放置于保鲜袋中,带回实验室。

将收集的葡萄根围土样过 80 目筛,风干,称取约 0.50 g,用 DNA 提取试剂盒提取总 DNA;叶围称取约 10 g 加入 100 mL PBS (0.1 mol/L pH 7.0) 缓冲液,180 r/min 涡旋振荡 30 min 后 4 °C 超声 15 min,采用微孔滤膜在真空抽滤装置中过滤,取出滤膜,剪碎放入灭菌离心管中,用 DNA 提取试剂盒提取总 DNA。将提取的根围和叶围 DNA Nano Drop 测定浓度后冻存在-80 °C,备用。

## 1.3 细菌 16S rRNA 基因的扩增和酶切

采用具有荧光标记的细菌通用引物 27F/926R (引物 27F 的 5'端用 FAM 标记)扩增 7 个不同白葡萄品种的根围、叶围微生物基因组 DNA。50  $\mu\text{L}$  PCR 反应体系:DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ ,正反向引物(10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 2  $\mu\text{L}$ ,dNTPs (2.5  $\mu\text{mol/L}$ ) 4  $\mu\text{L}$ ,10 $\times$ Pyrobest buffer 5  $\mu\text{L}$ ,Pyrobest DNA polymerase (2.5 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.3  $\mu\text{L}$ ,ddH<sub>2</sub>O 35.7  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件为:95 °C 5 min;95 °C 30 s,50 °C 45 s,72 °C 1 min,30 个循环;72 °C 10 min。其中根围 DNA 在作为模板时稀释 10 倍后扩增,以防土壤中腐植酸等 PCR 抑制剂影响扩增效率。PCR 产物用胶回收试剂盒纯化回收。纯化后的 PCR 产物用限制性内切酶 *Rsa* I 酶切,

20  $\mu\text{L}$  酶切体系:10 倍酶切 Buffer 2  $\mu\text{L}$ ,DNA 模板约 100–200 ng,混匀后加入酶(10 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ ,用 ddH<sub>2</sub>O 补齐至 20  $\mu\text{L}$ 。酶切反应条件:37 °C 酶切 3 h。

## 1.4 毛细管电泳

消化后的酶切产物取 0.3  $\mu\text{L}$  通过 3 mol/L 醋酸钠和 95%乙醇沉淀,4 °C、8 000 $\times g$  离心 20 min。加入 0.5  $\mu\text{L}$  GS1200LIZ 内标和 8.5  $\mu\text{L}$  去离子甲酰胺,放入 96 孔板,经由 95 °C 变性 5 min 后置于冰上,利用基因分析仪进行 T-RFLP 检测。

## 1.5 数据分析

片段大小以及荧光强度使用软件 GeneMarker (version 1.75)分析,根据峰面积定量 T-RFs,舍去<50 bp 以及>500 bp 的片段以规避引物和片段大小测定的不确定性<sup>[12]</sup>。细菌中相对丰度过小的末端限制性片段不会对群落的特征产生较为明显的影响<sup>[13-14]</sup>,因此在分析过程中舍去相对丰度<1%的 T-RFs。T-RFs 谱图上的峰面积大小以及数量反映了微生物群落结构及其多样性。微生物的多样性指数计算采用[15-17]方法:(1)物种丰富度指数  $S$ :即为物种的数目。(2)Simpson 指数: $D=1-\sum P_i^2$ ,其中  $P_i$  为第  $i$  种占总个体数的比例,Simpson 指数反映了物种的优势度。(3)Shannon-Wiener 指数: $H=-\sum P_i \ln P_i$ ,Shannon 指数反映样品的多样性程度,其值越高表明群落物种的多样性越高。(4)均匀度指数: $J=-\sum P_i \ln P_i / \ln S$ 。以上各公式中, $P_i=N_i/N$ , $N_i$  为属  $i$  的单菌落数量, $N$  为样品中的总单菌落数量。多样性指数采用 Past 3.0,聚类分析采用 Primer 6.0,其他数据分析利用 Origin 9.0 和 IBM SPSS Statistics 20 统计软件分析,组间比较采用 One-Way ANOVA,多重比较采用 LSD 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同品种酿酒葡萄根围、叶围细菌群落微生物 T-RFLP 多态性分析

采用 T-RFLP 技术对不同酿酒葡萄品种根围和叶围细菌 DNA 扩增产物进行酶切图谱分析,根围和叶围细菌分别检测到 72.0–593.6 bp 的优势片段 15 个和 16 个。根围 T-RFs 片段具体为 72.0、73.3、

74.6、91.5、103.7、114.8、118.1、419.4、421.3、448.7、453.6、455.2、475.2、482.6、593.6 bp。不同品种葡萄根围微生物优势菌群推测可能是 74.6 bp 的藤黄单胞菌属, 在长相思(Sau)、米勒(Mul)、赛美蓉(Sem)、琼瑶浆(Tra)、白云霓(Ugn)、白诗南(Che)、白福尔(Fol)中的丰度百分比分别为 52.18%、41.42%、34.14%、24.38%、22.12%、16.72%和 12.47% (图 1A)。这些现象说明酿酒葡萄品种的根围具有较高的微生物群落多样性, 同时所有根围均发现 419 bp 的 T-RFs 片段, 推测可能为肠杆菌属。

叶围 T-RFs 菌群片段具体为 72.0、73.3、74.6、91.5、103.7、114.8、118.1、197.3、242.0、419.4、421.3、448.7、453.6、475.2、593.6 bp (图 1B)。由此推测, 不同品种葡萄叶围微生物优势菌群可能为 91.5 bp 的弗兰克氏菌。在长相思、米勒、赛美蓉、琼瑶浆、白云霓、白诗南、白福尔中

的丰度百分比分别为 12.20%、21.20%、13.65%、62.21%、21.32%、29.33%、20.46% (图 1B)。弗兰克氏菌能与非豆科植物共生固氮, 且具有根瘤菌所没有的自身防止固氮活性受氧损伤的独特机制<sup>[18]</sup>。

2.2 不同品种酿酒葡萄根围、叶围细菌群落多样性的变化

每一个峰可作为一个 OTU 分析, 同时根据图谱计算微生物群落结构多样性 Shannon 香农指数(*H*)、Simpson 辛普森指数(*D*)、均匀度指数(*J*)。

利用限制性内切酶 *Rsa* I 对不同酿酒葡萄品种的细菌 PCR 产物酶切分析, 多样性指数如下: 根围 Simpson 指数大小顺序为白福尔>琼瑶浆>白诗南>赛美蓉>白云霓>米勒>长相思; Shannon 指数最大的为白福尔, 最小的为白云霓, 这与 Simpson 指数基本一致。叶围 Simpson 指数最大的为白诗南, 最小的为米勒, 与 Shannon 指数基本一致(表 1)。

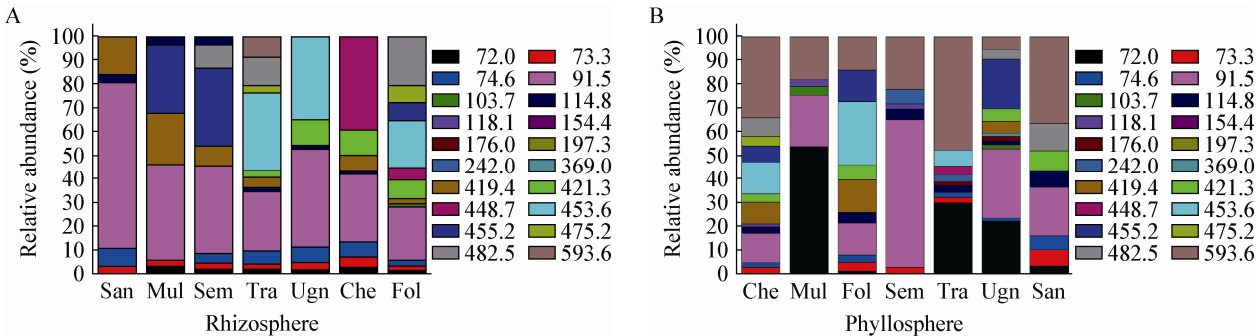


图 1 不同品种葡萄根围和叶围细菌 T-RFs 相对丰度百分比

Figure 1 The relative percent of rhizosphere and phyllosphere bacterial T-RFs in different wine grape cultivars

表 1 不同品种酿酒葡萄根围、叶围细菌多样性比较						
Table 1 Comparison on bacterial diversity of rhizosphere and phyllosphere in different wine grape cultivars						
品种 Varieties	根围 Rhizosphere			叶围 Phyllosphere		
	<i>D</i>	<i>H</i>	<i>J</i>	<i>D</i>	<i>H</i>	<i>J</i>
Che	0.74b	1.61b	0.63ab	0.83a	2.08a	0.67c
Mul	0.68bc	1.27cd	0.71a	0.63b	1.20de	0.71c
Fol	0.85a	2.08a	0.67a	0.85a	2.04a	0.77b
Sem	0.73b	1.51bc	0.64ab	0.56c	1.13e	0.51d
Tra	0.82a	2.00a	0.67a	0.64b	1.47d	0.54d
Ugn	0.69bc	1.40c	0.58c	0.81a	1.91b	0.56d
Sau	0.48cd	0.97d	0.53c	0.81a	1.81c	0.87a

注: 不同小写字母表示不同样品之间的差异显著性( $P<0.05$ ).

Note: Different lowercase showed that the difference significance among different samples ( $P<0.05$ ).

利用数据库 MiCA (<http://mica.ibest.uidaho.edu/>) 在线比对, 得出部分 T-RFs 片段可能代表的类群。

对不同品种葡萄根围 T-RFs 定性分析得知, 448.7 bp 的片段为所有葡萄根围共有的 T-RFs 片段, 根围所含 T-RFs 片段最多的葡萄品种为白诗南, 主要为 72.0、73.3、91.5、114.8、118.1、419.4、421.3、448.7、453.6、475.2、482.5、593.6 bp 的 T-RFs 片段。含有细菌群落最少的为长相思, 主要有 73.3、91.5、114.8、419.4、448.7 bp 的 T-RFs 片段(表 2)。

对不同品种叶围 T-RFs 片段定性分析可知, 白云霓叶围所含的 T-RFs 片段最多。主要 T-RFs 片段为 72.0、74.6、91.5、103.7、114.8、197.3、419.4、421.3、453.6 bp。米勒叶围所含的 T-RFs 最少, 主要 T-RFs 片段 72.0、91.5、103.7、118.1 bp (表 3)。

为研究不同品种葡萄之间的微生物群落演变, 对不同微生物群落的 Bray-Curtis 相似性进行了计算, 并依据 Bray-Curtis 相似性构建了系统进化树 (Phylogenetic tree) 和非度量多维标度 (Nonmetric Multidimensional Scaling, NMDS), 根据系统进化树分析得知, 根围细菌群落根据品种不同聚类, 白诗南和长相思、米勒和赛美蓉、白云霓和琼瑶浆以及白福尔组成不同的微生物群落簇(图 2A、3A)。结合聚类结果分析可知, 叶围细菌类群总的趋势和根围保持一致, NMDS 表明不同品种其根围以及叶围的微生物群落组成有一定差异。细菌群落的 NMDS 分别在米勒和赛美蓉、白福尔和白诗南以及长相思中形成不同的微生物群落簇, 以上这些结果表明不同品种的微生物群落在酿酒葡萄不同组织中发生了演变(图 2B、3B)。

表 2 不同品种酿酒葡萄根围细菌群落分析

Table 2 Analysis of bacterial communities of rhizosphere in different wine grape cultivars

T-RF 长度 T-RF length (bp)	最相似菌属 The most similar strain (NCBI)	根围 Rhizosphere						
		Che	Mul	Fol	Semillon	Tra	Ugn	Sau
72.0	<i>Ornithinococcus</i> sp.	+	+	+	+	+		
73.3	<i>Lactococcus</i> sp.	+	+	+	+	+		+
74.6	<i>Luteimonas</i> sp.			+	+	+		
91.5	<i>Frankia</i> sp.	+	+		+		+	+
103.7	<i>Blattabacterium</i> sp.			+				
114.8	<i>Capnocytophaga</i> sp.	+				+		+
118.1	<i>Clostridium</i> sp.	+						
419.4	<i>Devosia</i> sp.	+	+	+	+	+		+
421.3	<i>Brevundimonas</i> sp.	+		+		+		
448.7	<i>Acidocella</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+
453.6	<i>Sulfobacillus</i> sp.	+		+		+	+	
455.2	<i>Rhodococcus</i> sp.		+	+	+		+	
475.2	<i>Burkholderia</i> sp.	+		+		+	+	
482.5	<i>Bacillus</i> sp.	+			+	+	+	
593.6	<i>Sporomusa</i> sp.	+				+	+	

注: +: 存在; 未标注: 不存在或不确定。

Note: +: Existence; Not marked: Non existent or uncertain.

表 3 不同品种酿酒葡萄叶围细菌群落分析								
Table 3 Analysis of bacterial communities of phyllosphere in different wine grape cultivars								
T-RF 长度 T-RF length (bp)	最相似菌属 The most similar strain (NCBI)	叶围 Phyllosphere						
		Che	Mul	Fol	Sem	Tra	Ugn	Sau
72.0	<i>Ornithinococcus</i> sp.		+	+			+	+
73.3	<i>Lactococcus</i> sp.	+		+	+	+		+
74.6	<i>Luteimonas</i> sp.	+		+			+	
91.5	<i>Frankia</i> sp.		+	+	+	+	+	+
103.7	<i>Mycoplasma</i> sp.		+				+	
114.8	<i>Capnocytophaga</i> sp.			+	+	+	+	+
118.1	<i>Clostridium</i> sp.	+	+		+	+		
197.3	<i>Eubacterium</i> sp.						+	
242.0	<i>Geobacter</i> sp.				+	+		
419.4	<i>Devosia</i> sp.	+		+			+	
421.3	<i>Brevundimonas</i> sp.	+		+			+	+
448.7	<i>Acidocella</i> sp.							
453.6	<i>Sulfobacillus</i> sp.	+		+			+	
475.2	<i>Burkholderia</i> sp.	+						
482.5	<i>Bacillus</i> sp.	+						+

注：+：存在；未标注：不存在或不确定。  
Note: +: Existence; Not marked: Non existent or uncertain.

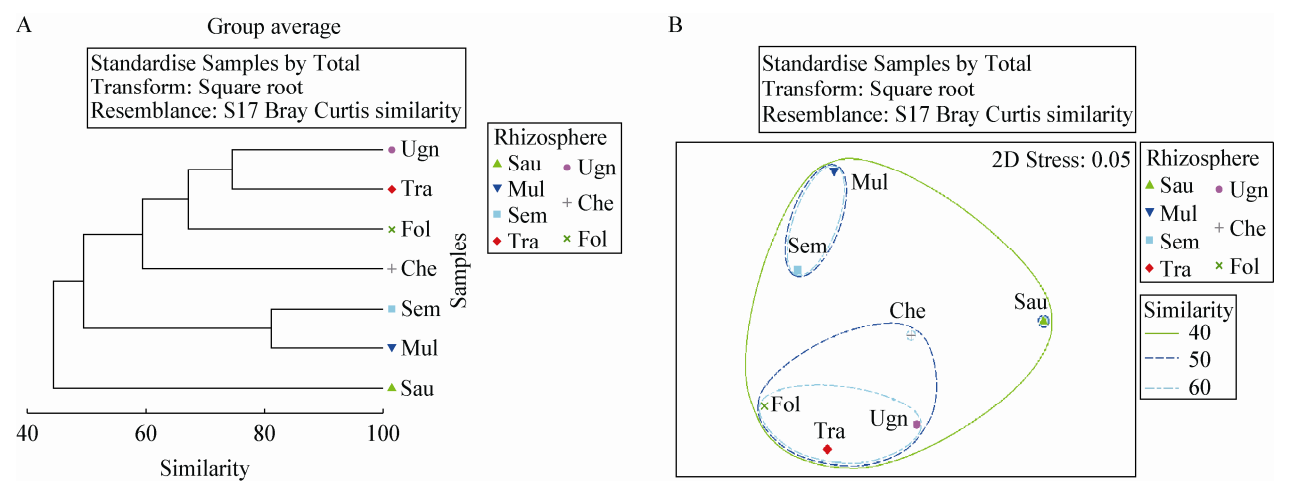


图 2 不同品种酿酒葡萄根围细菌群落进化树及 NMDS 分析  
Figure 2 The NMDS plot of Bacterial communities phylogenetic tree on rhizosphere in different wine grape cultivars

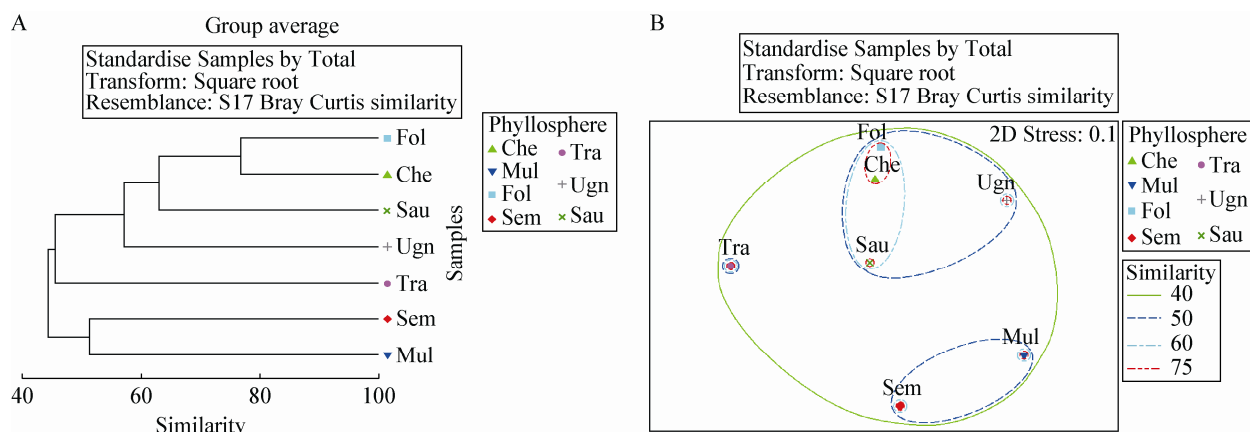


图3 不同品种酿酒葡萄叶围细菌群落进化树及 NMDS 分析

Figure 3 The NMDS plot of Bacterial Communities phylogenetic tree on phyllosphere in different wine grape cultivars

### 3 结论与讨论

研究酿酒葡萄根围、叶围微生物不仅可以揭示葡萄与微生物的生态关系,而且对开发利用有益的微生物也有重要意义<sup>[8]</sup>。本研究应用 T-RFLP 技术分析了酿酒葡萄不同品种根围、叶围细菌群落结构,发现不同品种葡萄根围微生物优势 T-RFs 片段为 91.5 bp,推测可能为变形菌门中的弗兰克氏菌,弗兰克氏菌能够与许多非豆科植物共生,固定空气中的氮,对于生态改良有着非常重要的应用前景,在所有酿酒葡萄根围均发现有 419.4 bp 的片段,推测可能为肠杆菌目中的肠杆菌属,肠杆菌通常位于肠道,但在果园生态系统发现,推测可能是该酿酒葡萄园施用了大量农家粪便造成的。叶围 Simpson 指数最大的为白诗南,最小的为米勒,与 Shannon 指数基本一致。生物多样性是衡量生态系统稳定和健康的指标,由于不同葡萄品种根系分泌物种类和数量的不同,必然导致品种间根区微生物群落结构多样性的差异。叶围微生物受到更多的紫外照射,温度波动、湿度变化<sup>[19]</sup>,且叶围面临着营养不足的状况<sup>[20-21]</sup>,这些环境的改变可能促进了微生物群落的多样性<sup>[22-23]</sup>。国内外的研究资料表明,根围土壤提供微生物所需的大量碳源,包括氨基酸、有机酸和碳水化合物等<sup>[24]</sup>,根围微生物种群与植物的健康状况关系密切,葡萄根围、叶围微生物数量、

群落结构以及优势种群和种群结构多样性及变化规律受到葡萄品种、土壤类型、施肥、环境因素以及微生物相互作用的影响,这些影响因素对微生物具有改善生态条件的优势,还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Francesca N, Chiurazzi M, Romano R, et al. Indigenous yeast communities in the environment of "Rovello bianco" grape variety and their use in commercial white wine fermentation[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 26(2): 337-351
- [2] Li Y, Lu J, Zhang LZ. Biodiversity of yeast in soils from Longan grape plantations in Shacheng region[J]. Food Science, 2010, 31(19): 313-316 (in Chinese)  
李艳, 卢君, 张利中. 沙城龙眼葡萄园土壤中酵母菌多样性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 313-316
- [3] Lindow SE, Leveau JHJ. Phyllosphere microbiology[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13(3): 238-243
- [4] Redford AJ, Bowers RM, Knight R, et al. The ecology of the phyllosphere: geographic and phylogenetic variability in the distribution of bacteria on tree leaves[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(11): 2885-2893
- [5] Lighthart B. The ecology of bacteria in the alfresco atmosphere[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1997, 23(4): 263-274
- [6] Zhang BG, Bai ZH, Hoefel D, et al. The impacts of cypermethrin pesticide application on the non-target microbial community of the pepper plant phyllosphere[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(6): 1915-1922
- [7] Bokulich NA, Thorngate JH, Richardson PM, et al. Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(1): E139-E148
- [8] Martins G, Lauga B, Miot-Sertier C, et al. Characterization of epiphytic bacterial communities from grapes, leaves, bark and soil of grapevine plants grown and their relations[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e73013
- [9] Lima G, de Curtis F, Piedimonte D, et al. Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*[J].

- Postharvest Biology and Technology, 2006, 40(3): 301-307
- [10] Sharma RR, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review[J]. Biological Control, 2009, 50(3): 205-221
- [11] Chen DM, Ke WH, Chen LL, et al. Diversity of bacterial community in rhizosphere soils under effects of continuously planting burley tobacco[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(7): 1751-1758 (in Chinese)  
陈冬梅, 柯文辉, 陈兰兰, 等. 连作对白肋烟根际土壤细菌群落多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(7): 1751-1758
- [12] Wang XH, Wen XH, Criddle C, et al. Community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of eight wastewater treatment systems[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(4): 627-634
- [13] Teng QH, Cao H, Cui ZL, et al. PCR-RFLP analysis of bacterial 16S rDNA from a typical garden soil in Taihu region[J]. Biodiversity Science, 2006, 14(4): 345-351 (in Chinese)  
滕齐辉, 曹慧, 崔中利, 等. 太湖地区典型菜地土壤微生物 16S rDNA 的 PCR-RFLP 分析[J]. 生物多样性, 2006, 14(4): 345-351
- [14] Shi Q, Bai YH, Li ZX, et al. Analysis of bacterial community in the polluted water of dianchi lake by using T-RFLP Technique[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2011, 32(6): 1786-1792 (in Chinese)  
史青, 柏耀辉, 李宗逊, 等. 应用 T-RFLP 技术分析滇池污染水体的细菌群落[J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1786-1792
- [15] Guo ZG, Wang GX, Shen YY, et al. Plant species diversity of grassland plant communities in permafrost regions of the northern Qinghai-Tibet Plateau[J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(1): 149-155 (in Chinese)  
郭正刚, 王根绪, 沈禹颖, 等. 青藏高原北部多年冻土区草地植物多样性[J]. 生态学报, 2004, 24(1): 149-155
- [16] Johansen JE, Binnerup SJ. Contribution of *Cytophaga*-like bacteria to the potential of turnover of carbon, nitrogen, and phosphorus by bacteria in the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.)[J]. Microbial Ecology, 2002, 43(3): 298-306
- [17] Gupta C, Dubey R, Maheshwari D. Plant growth enhancement and suppression of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut by fluorescent *Pseudomonas*[J]. Biology and Fertility of Soils, 2002, 35(6): 399-405
- [18] Jiang Y, Yang Y, Chen HH, et al. Resources of endophyte[J]. Microbiology China, 2005, 32(6): 146-147 (in Chinese)  
姜怡, 杨颖, 陈华红, 等. 植物内生菌资源[J]. 微生物学通报, 2005, 32(6): 146-147
- [19] Lindow SE, Brandl MT. Microbiology of the phyllosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(4): 1875-1883
- [20] Andrews JH. Biological control in the phyllosphere[J]. Annual Review of Phytopathology, 1992, 30(1): 603-635
- [21] Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 4951-4959
- [22] Hutchinson GE. The paradox of the plankton[J]. The American Naturalist, 1961, 95(882): 137-145
- [23] Chesson PL, Warner RR. Environmental variability promotes coexistence in lottery competitive systems[J]. The American Naturalist, 1981, 117(6): 923-943
- [24] Wawrik B, Lee Kerkhof, Kukor J, et al. Effect of different carbon sources on community composition of bacterial enrichments from soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6776-6783